Aus der Pharmakologischen Anstalt der Universität Basel
(Vorsteher: Prof. Dr. H. Staub)

Zur Physiologie des Blutglykogens

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

GERCAS GOLANDAS

aus

Stotis Rokiškis
(Litauen)

STETTEN/BASEL 1927
BUCHDRUCKEREI KARL SCHAHL

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt

auf Antrag von Herrn Professor Dr. H. STAUB

Tag der Promotion: 17. Juli 1935

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere, Band 236, Seite 230, 1935.

Meinen lieben Eltern!

Definition. Als Blutglykogen bezeichnen wir die nach der *Pflüger*'schen Methode aus Gesamtblut, Blutplasma oder Blutserum darstellbare, gegen heiße 60%ige Kalilauge widerstandsfähige, weiße, amorphe Substanz, welche nach Säurehydrolyse reduziert und durch die Größe des Reduktionsvermögens quantitativ bestimmbar ist. Ob es sich bei dieser als Glykogen bezeichneten Substanz ausschließlich um dieses Polysaccharid handelt, das nach *Haworth* [1] 12 pyroide Glykosemoleküle in α-glykosidischer Bindung enthält, oder ob andere aus der Laugenlösung mit Alkolhol fällbare und nach Hydrolyse reduzierende Substanzen mitbestimmt werden, haben wir nicht entschieden. Es dürfte sich aber doch wohl zur Hauptsache um Glykogen handeln, was wir mit der *Pflüger*'schen Methode bestimmen, denn sonst wäre es ja nicht möglich Kohlehydratstoffwechsel-Bilanzen unter Berücksichtigung dieses Glykogens, am ganzen Tier oder am Muskel aufzustellen, wie das in den letzten 10 bis 15 Jahren von Physiologen und anderen mit großem Erfolg häufig gemacht wurde. Bezüglich der Literatur über Blutglykogen sei auf die Zusammenfassungen von *Grevenstuk* [2] und *Staub* [3] verwiesen. Auf die unerfreuliche, wenig nennenswerte Tatsachen aufweisende Diskussion über den sog. „gebundenen Zucker" im Blut, braucht hier nicht eingegangen zu werden, solange noch niemand bewiesen hat, daß nach der *Pflüger*schen Methode außer Glykogen noch andere reduzierende Substanzen aus tierischem Material bestimmt werden. Nach *Staub* [3] macht das Blutglykogen wohl einen wesentlichen Teil des sog. gebundenen Zuckers im Blut aus, aber die biochemischen Erkenntnisse werden eher gefördert, wenn man das quantitative Verhalten einer wohldefinierten Substanz im tierischen Körper verfolgt, als wenn man genetisch völlig unübersichtliche Komplexe, wie sie der sog. gebundene Zucker oder auch der Gesamtkohlenstoff des Blutes darstellen, quantitativ verfolgen will.

Methodik. Die von *v. Przylecky* im *Parnas*'schen Laboratorium [4] ausgearbeitete Methode, zur Bestimmung von Glykogen nach *Pflüger* in kleinen Gewebsstücken, wurde auf Blut angewandt; sie hat sich bei früheren Untersuchungen bewährt (vergl. *Staub* [5]). Der Arbeitsgang zur Blutglykogenbestimmung ist folgender: In ein spitzes etwa 15 ccm fassendes Zentrifugenglas wird 1 ccm 60%ige KOH gegeben und 5—10 Min. in kochendem Wasserbad erwärmt. Dann fügt man genau 1 ccm Blut zur Kalilauge und läßt für 1 Stunde, unter öfterem Umrühren mit einem Glasstab, in kochendem Wasserbad stehen. Nach Herausnahme aus dem Wasserbad wird mit 2 ccm heißem Wasser verdünnt, gut durchgemischt und mit 4 ccm 96%igem Alkohol unter Umrühren der Lösung gefällt. Wir fällen also das Glykogen aus der Laugenlösung bei etwa 50%iger Alkoholkonzentration aus Nach einigen Stunden stehen lassen, wobei man durch Verschließen des Röhrchens die Alkohol-

verdunstung möglichst vermeidet, wird die Fällung abzentrifugiert. Das vorangehende Stehenlassen der alkoholischen Laugenlösung erleichtert das Absetzen des Niederschlages beim Zentrifugieren. Es wird 15 Min. lang bei 3500 Touren scharf abzentrifugiert. Die überstehende, klare Flüssigkeit wird nach üblicher Methode mit umgebogenem Glasröhrchen abgesaugt, und der Rückstand nacheinander mit je 2 ccm 60 und 80%igem Alkohol, dann 2mal mit 96%igem Alkohol und schließlich mit Äther gewaschen. Nach jedem Zusatz eines Waschmittels wird der Rückstand mit Glasstab kräftig aufgewirbelt und jedesmal 6 Min. bei 3500 Touren abzentrifugiert. Zur Entfernung der letzten Ätherspuren wird das gewonnene Glykogen für kurze Zeit an der Wärme stehen gelassen.

Diesem Isolierungsverfahren schließt sich die Invertierung nach *Nerking*[6] mit 2,2%iger Salzsäure an. Es wurde mit 5 ccm der 2,2%igen HCl 3 Stunden lang im kochenden Wasserbad hydrolysiert. Um die Verdampfung möglichst zu verhindern, wird das Zentrifugenglas mit Glasdeckel zugedeckt; denn Verdampfung führt zu Verlust an invertiertem Zucker. Nach Invertierung und Abkühlung wird die Lösung mit 2%iger Natronlauge, gegen Methylorange als Indicator neutralisiert. Alle bis jetzt angeführten Manipulationen werden im gleichen Zentrifugenglas durchgeführt, die zur Neutralisierung nötige Natronlauge wird gleichzeitig auch benützt, um den Inhalt des Zentrifugenglases quantitativ in das weite Glasgefäß überzuspülen, in welchem die Zuckerbestimmung nach *Hagedorn-Jensen*[7] angeschlossen werden kann.

Zur Prüfung der Zuverlässigkeit der Methode wurde der Glykogengehalt verschiedener Blutsorten (Mensch, Hund, Kaninchen), ohne und mit Zusatz bekannter Glykogenmengen (Glykogen-*Merk*), bestimmt. Die Tabelle 1 gibt die Resultate dieser Vorversuche wieder.

Tabelle 1.

Vorgelegt	Glykogen als Glucose in mg			Vorgelegt	Glykogen als Glucose in mg		
	ber.	best.	gef. in %		ber.	best.	gef. in %
Menschenblut 1				*Hundeblut*			
ohne Glykogenzusatz	0,093			ohne Glykogenzusatz	0,140		
+ 0,05 mg Glykogen	0,143	0,141	96	+ 0,05 mg Glykogen	0,190	0,189	98
+ 0,1 „ „	0,193	0,191	98	+ 0,1 „ „	0,240	0,236	96
+ 0,15 „ „	0,243	0,235	94,6	+ 0,15 „ „	0,290	0,282	94,6
Menschenblut 2				*Kaninchenblut*			
ohne Glykogenzusatz	0,075			ohne Glykogenzusatz	0,084		
+ 0,05 mg Glykogen	0,125	0,125	100	+ 0,05 mg Glykogen	0,134	0,133	98
+ 0,1 „ „	0,175	0,171	96	+ 0,1 „ „	0,184	0,181	97
+ 0,15 „ „	0,225	0,219	96	+ 0,15 „ „	0,234	0,225	94

Das Glykogen wurde stets vor der Blutzugabe zur warmen Kalilauge zugefügt. Die Glykogenmenge wird als Glucose angegeben, von einer Umrechnung mit dem *Nerking*'schen Faktor 0,927 haben wir Abstand genommen. Aus der Tabelle 1 ist ersichtlich,

daß zugesetzte Glykogenmengen zu rund 95 % nach der beschriebenen Methode wieder gefunden werden: die Genauigkeit ist demnach eine genügende. Die im folgenden angeführten Glykogenwerte sind durchweg Mittelwerte aus Doppelbestimmungen, die in der Regel sehr nahe beisammen lagen oder identisch waren.

Versuchsanordnung. Soweit nichts besonderes vermerkt ist, wurden die Versuche stets morgens nüchtern nach 12—15 Stunden Hungerzeit ausgeführt. Beim Menschen wurde das Blut aus der Cubitalvene, beim Hund aus Ohrvene oder Vena saphena und beim Kaninchen aus der Ohrvene entnommen. Zur Gerinnungsverhinderung wurde pro 1 ccm Blut 2 mg Natriumcitrat zugesetzt. Meist wurde neben Blutglykogen auch der „Blutzucker" nach der *Hagedorn-Jensen*-Methode bestimmt. Für eine einmalige Doppelbestimmung von Glykogen und Zucker wurden jeweils 3—4 ccm Blut benötigt. Wurde der Glykogengehalt nicht nur im Gesamtblut, sondern auch im Plasma und Serum bestimmt, so war natürlich eine größere Blutentnahme nötig.

1. Der normale Nüchternwert des Blutglykogens und die Verteilung auf Körperchen, Plasma und Serum.

a) Mensch. In den folgenden Tabellen 2 a und b sind Werte von Patienten der medizinischen Universitätsklinik Basel zusammengestellt* , die entweder Rekonvaleszenten waren, oder von denen man annehmen konnte, daß sie keine wesentliche Stoffwechselstörung aufwiesen. Bei einer Anzahl der untersuchten Menschen wurde neben Glykogen und Zucker im Gesamtblut auch Glykogen in Serum und Plasma bestimmt.

Tabelle 2a. Menschen.

Alter in Jahren	Glykogen im Vollblut in mg-%	Zahl der Best.	Im Mittel
	Männer:		
bis 30	7,2, 7,5, 8,0, 8,1, 8,1, 8,2, 8,3, 8,6, 8,7, 8,7, 8,8, 9,2, 10,2, 10,6	14	8,6
30—40	6,7, 7,8, 8,1, 8,1, 8,3, 8,4, 8,6, 8,7, 9,1, 9,1, 9,3, 9,9, 10,6, 10,6, 10,6, 11,3	16	9,1
40—50	7,7, 8,1, 8,7, 8,8, 9,1, 9,3, 10,1, 10,7, 10,8, 12,1	10	9,5
50 und höher	7,1, 7,6, 7,7, 7,8, 8,0, 8,4, 8,7, 8,8, 8,8, 8,9, 9,1, 9,2, 10,2, 10,7, 10,8, 11,3	16	8,9
	Mittelwert sämtl. männlichen Personen: *9,0*		
	Frauen:		
bis 30	7,5, 8,8, 8,9, 9,0, 9,0, 9,5, 9,5, 10,0, 10,3	9	9,1
30—40	7,7, 7,9, 8,6, 8,8, 9,0, 9,2, 10,8, 12,2	8	9,2
40—50	7,8, 8,0, 8,8, 10,1	4	8,8
50 und höher	7,3, 7,9, 8,6, 8,7, 9,9, 11,6	6	8,9
	Mittelwert sämtl. weiblichen Personen: *9,0*		
Mittelwert aus allen 83 Best. an stoffwechselgesunden Menschen: *9,0.*			

* Für die Erlaubnis, diese Bestimmungen vornehmen zu dürfen, sind wir Herrn Prof. *R. Staehelin* zu Dank verpflichtet.

Tabelle 2b. Menschen.

Glykogen im Serum in mg-%	Zahl der Best.
Männer:	
2,7, 2,7, 2,8, 2,9, 2.9 2,9, 2,9, 2.9, 2,9 3,0, 3,0, 3,0, 3,0, 3,0, 3,0, 3,0, 3,0, 3,1, 3,1, 3,1, 3,2, 3,2, 3,2, 3,2, 3,2, 3,4	26
Mittelwert sämtlicher männlichen Personen: *3,0*	
Frauen:	
2,4, 2,5, 2,7, 2,8, 2 8, 2,8, 2,8, 2,9 2,9, 2,9, 3,0, 3,0, 3,1, 3,1, 3,1, 3,2, 3,2, 3,2, 3,2, 3,2, 3,4	21
Mittelwert sämtlicher weiblichen Personen: *2,96*	

Mittelwert aus allen 47 Best. an stoffwechselgesunden Menschen: *2,98.*

Der Glykogengehalt des Gesamtblutes schwankt bei diesen Menschen verschiedensten Alters zwischen 6,7—12,2 mg-%. Die meisten Werte liegen zwischen 8—10 mg-%. Als Mittelwert der 83 Fälle ergibt sich *9,0 mg-%*. *Der Glykogengehalt des Serums*, der in 47 Fällen bestimmt wurde, variiert zwischen 2,4—3,4 mg-% bei einem Mittelwert von rund *3,0 mg-%*.

Über die Verteilung von Glykogen auf Vollblut, Plasma und Serum beim stoffwechselgesunden Menschen geben folgende Zahlen in Tabelle 3 Aufschluß.

Tabelle 3. Menschen.

Protokoll-Nr.	Glykogen in mg-% in		
	Vollblut	Plasma	Serum
7	6,7	3,1	3,0
8	10,5	3,2	3,1
24	8,7	3,0	2,8

Im Serum ist demnach normalerweise etwas weniger Glykogen als im Plasma, doch unterscheiden sich die Werte sehr wenig voneinander. *Hämolyse muß bei diesen Bestimmungen vermieden werden, denn im hämolytischen Plasma oder Serum ist der Glykogengehalt höher.*

b) Hund. Die normalen Nüchternwerte von Glykogen im Vollblut wurden an verschiedenen Tieren zu 14,0, 13,6, 10,9, 12,1, 13,7, 15,3, 8,6 mg-% im Durchschnitt 12,6 mg-% bestimmt. Die Verteilung auf Vollblut, Plasma und Serum ist in der folgenden Tabelle 4 angegeben.

Tabelle 4. Hunde.

Protokoll-Nr.	Glykogen in mg-% in		
	Vollblut	Plasma	Serum
6	13,7	3,8	3,1
7	8,6	3,3	3,2
8	15,3	3,3	3,0

Ein Vergleich mit den Glykogenwerten im menschlichen Vollblut zeigt, daß beim Hund in der Regel ein höherer Glykogennüchternwert im Gesamtblut vorhanden ist. Die Werte für Plasma und Serum unterscheiden sich von denjenigen des Menschen nicht wesentlich. Wiederum ist der Plasmawert etwas höher als derjenige im Serum.

c) Kaninchen. Die Nüchternwerte im Vollblut sind 13,9, 8,4, 8,7, 12,8, 9,3, 8,4, 10,1, 10,3, 11,4, 14,4, 8,2, 8,5, 7,4, 10,9, 10,7,

9,5, 7,9, 11,5, 7,4, 10,3, 10,9, 8,1, 8,4, 7,4, 9,5, 8,6, 8,7, 8,7, 9,1, 7,8, 11,4, 10,2, 8,1, 8,7, 7,2, 9,1, 8,7, 8,9, 9,7, 10,2, 11,7, 10,1, 6,4, 9,3, 8,5, 10,3, 8,6, 9,3, 7,9, 8,5, 9,1, 8,5, 6,5, 9,8, 8,4, 8,7, 9,3, 8,2, 7,8, 8,3, 8,0, 10,1, 7,5, 8,9, 9,2, 7,2, 9,3, 8,5, 7,6, 7,5 mg-%. *Im Durchschnitt errechnet sich aus diesen 70 Bestimmungen 9,1 mg-% Glykogen im Vollblut* (minimal 6,4, maximal 14,4, die meisten Werte liegen zwischen 8—10 mg-%). Die Verteilung auf Vollblut, Plasma und Serum ist aus Tabelle 5 zu ersehen.

Tabelle 5. Kaninchen.

Protokoll-Nr.	Glykogen in mg-% in		
	Vollblut	Plasma	Serum
19	13,9	3,9*	2,8
32	8.7	3,1	2,5
59	9,3	3 4	2,9
67	8,4	3,4*	2,9

Die mit * bezeichneten Plasmaflüssigkeiten waren etwas hämolytisch, deshalb dürfte der für Plasma bestimmte Wert etwas zu hoch sein. Im großen ganzen sind die Glykogennüchternwerte im Vollblut, Plasma und Serum beim Kaninchen, gleich wie beim Menschen.

Die Blutglykogenwerte, welche von anderen Autoren mitgeteilt wurden, sind folgende: Nach *Kaufmann* [8] enthält jedes Blut Glykogen, und zwar Spuren bis 2,5 mg-%. Davon ist nicht alles an die Formelemente gebunden, sondern ein Teil findet sich im Plasma. *Gabbe* [9] bestimmt in *Menschenblut*, anscheinend nach der *Pflüger*'schen Methode, 18—30 mg-% im Vollblut und 15—20 mg-% im Plasma. Nach *Schwarz* und *Gerson* [10] sind nach der unzuverlässigen Methode von *de Jongh* und *Planelles* (Trübungsreaktion wird ausgewertet) [11] beim Menschen normalerweise 0—1 mg-% Glykogen vorhanden, und mit der gleichen Methode bestimmte auch *Mainzer* [12] im Vollblut von 5 normalen Frauen 1,25—4,2 mg-%, im Plasma 0—1,8 mg-% und im Serum 1,0—2,1 mg-% Glykogen. Im Blut aus der Nabelschnur des neugeborenen Kindes fand die gleiche Autorin 3,1—6,3 mg-% im Vollblut, 0,78—1,5 im Plasma und 1,04—1,3 im Serum. *Folin* [13] schließt aus der Vermehrung des Reduktionswertes nach Hydrolyse auf Glykogenanwesenheit in den Körperchen des Menschenblutes, ein strikter Beweis wurde nicht geliefert. Von *Eufinger* [14] wurden sogar 70 mg-% Glykogen als Normalwert im Menschenblut, angeblich mit der *Pflüger*'schen Methode, die aber nicht genau befolgt wurde, bestimmt. Im Blut eines Hundes, der 28 Tage gehungert hatte, fand *Pflüger* [15] 9 mg-%, *Schöndorff* [16] ebenfalls mit der *Pflüger*'schen Methode an 3 gut gefütterten Hunden 4,9, 1,6 und 6,6 mg-%, *Bong* [17] mit der gleichen Methode 13—30 mg-%. Im Blut der Vena cava des Hundes sollen nach *Ohara* [18] mit der *Pflüger*'schen Methode nur „Spuren" Glykogen in 50 ccm Blut nachweisbar sein. *Lang* [19] fand im Blut aus der Pfortader des Hundes mit der *Pflüger*'schen Methode und der gravimetrischen Zuckerbestimmung nach Allhin 0—24,2 mg-% im Durchschnitt aus 9 Tieren 8,3 mg-% Glykogen. Das Tier, in dessen Blut kein Glykogen nachgewiesen werden konnte, hatte 24 Stunden gehungert, die übrigen waren nicht besonders vorbereitet. Von *London* und *Entin* [20] wurde mit einem Verfahren, das sich auf die *Pflüger*'sche Methode gründet, im arteriellen Blut 8—26,8 mg-% Glykogen bestimmt. Von *Charit* [21] sind beim Hund in arteriellem Vollblut Normalwerte von 7,9 und 5,2 mg-% Glykogen

bestimmt worden. *London, Kotschneff*[20a] und Mitarbeiter finden sogar in Femoralarterie und Femoralvene des Hundes Glykogenwerte bis über 40 mg-%.

Im *Kaninchenblut* wurden von *Ohara*[18] nach der *Pflüger*'schen Methode nur Spuren Glykogen gefunden.

Die Zusammenfassung aus der Literatur zeigt auffällige, große Unterschiede für die normalen Glykogenwerte im Blut, selbst wenn die Bestimmungen angeblich mit der gleichen *Pflüger*'schen Methode durchgeführt wurden. Es besteht der begründete Verdacht, daß nicht immer der genaue *Pflüger*'sche Analysengang eingehalten, z. B. die Fällung aus Kalilauge nicht genügend gewaschen wurde, und deshalb bei der HCl-Hydrolyse zu hohe Werte von reduzierenden, unbekannten Substanzen gewonnen wurden. *Unsere Durchschnittswerte für normalen Nüchternzustand sind für venöses Vollblut des Menschen 9,0 mg-%, für Vollblut des Hundes 12,6 mg-% und für Vollblut des Kaninchens 9,1 mg-%.*

Diese Werte dürften die reellen, normalen Nüchternwerte darstellen, ausgedrückt in Glucose; denn 1. haben *Pflüger*[15] selbst und sein Mitarbeiter *Schöndorff* im Hundeblut sehr ähnliche Werte von 1,6—9 mg-% bestimmt, 2. entspricht die Isolierungsmethode genau den *Pflüger*'schen Vorschriften und 3. werden zugesetzte, bekannte Glykogenquantitäten durch die verwendete Methode bis zu 90 und mehr Prozent wiedergefunden.

Im Plasma und Serum sind die Glykogennüchternwerte bei Mensch, Hund und Kaninchen auffällig konstant und liegen bei 3 mg-%; in der Regel ist der Gehalt des Plasmas etwas höher als derjenige des Serums. Es ist demnach der größte Teil des Blutglykogens an die Formelemente gebunden, wie das in gewissem Gegensatz zu *Gabbe*[9], schon von *Folin*[13], *Schwarz* und *Gerson*[10] und *Mainzer*[12] mit ungenauerer Methode gefunden worden war.

Rechnen wir z. B. beim Menschen mit einem durchschnittlichen Blutkörperchenvolumen von 40% des Blutvolumens, so beträgt bei einem Glykogenwert des Gesamtblutes von 9,0 mg-% und einem Plasmaglykogengehalt von 3 mg-%, die *Durchschnittskonzentration von Glykogen in den Blutkörperchen normalerweise 18,0 mg-%.*

2. Die Variationen des Nüchternwertes des Blutglykogens.

Bei einigen Menschen und Kaninchen wurde der Glykogengehalt des Gesamtblutes zweimal mit mehreren Tagen Intervall bestimmt. Die Werte sind in Tabelle 6 und 7 angegeben.

Aus der Gegenüberstellung der Werte ergibt sich eine *angenäherte individuelle Konstanz* des Nüchternglykogenwertes im Blut.

3. Veränderungen im Glykogengehalt des Vollblutes beim Stehen unter verschiedenen Versuchsbedingungen.

Von *Magendie* wurde zuerst eine Amylase im Blutserum gefunden*. *Gabbe*[9] fand, daß die Reduktionskraft des Blutes um 10—20 mg-%, als Zucker berechnet, zunimmt, wenn die für die Blutamylase optimalen Bedingungen hergestellt werden.

Tabelle 6. Menschen.

Nüchtern Glykogenwerte am gleichen Induviduum 2mal in verschiedenen Intervallen bestimmt.

Protokoll-Nr.	Glykogen in mg-%	Intervall zwischen 1. und 2. Best. in Tagen	Glykogen in mg-%
5	9,9	2	9,5
12	9,1	2	8,1
24	8,7	3	9,3
44	9,9	4	9,8
83	9,5	2	9,6
97	9,0	3	8,7
125	8,3	3	8,3
134	11,4	1	12,3
143	11,5	3	11,2

Tabelle 7. Kaninchen.

Nüchtern Glykogenwerte am gleichen Tier 2 mal in verschiedenen Intervallen bestimmt.

Protokoll-Nr.	Glykogen in mg-%	Intervall zwischen 1. und 2. Best. in Tagen	Glykogen in mg-%
89	8,3	4	8,1
90	11,4	4	12,0
91	11.0	2	11,1
92	9,5	1	8,6
93	10,3	3	10,8
94	9,1	7	8,6

Es wird angenommen, daß Amylase Blutglykogen spaltet und angegeben, daß diese Spaltung unter den günstigen Bedingungen von pH 6,5 sehr rasch, innerhalb ½ Stunde, ihr Maximum erreicht. Maximal wird aber nur etwa die Hälfte des vorhandenen Blutglykogens gespalten.

Wir haben in Versuchsreihen, in denen das Blut bis zu 180 Stunden entweder im Brutschrank oder bei Zimmertemperatur, oder im Eisschrank bei —8° stehen gelassen wurde, den Glykogengehalt und daneben auch den freien Zucker (+ Restreduktion) nach *Hagedorn-Jensen* bestimmt. Ferner wurde das untersuchte Menschenblut zum Teil steril gehalten, zum Teil ohne sterile Kautelen untersucht. Das Blut wurde stoffwechselgesunden Menschen entnommen, je 4—5 ccm in 6—7 sterilen, Citrat enthaltenden Erlenmeyerkölbchen aufbewahrt. Der Inhalt jedes der 6—7 sterilen Kölbchen wurde gleichzeitig mit der Glykogenbestimmung auch auf Sterilität geprüft. Die Sterilitätsprüfungen wurden im bakteriologischen Laboratorium der Medizinischen Universitätsklinik, Prof. *Massini*, ausgeführt und ergaben durchweg Sterilität, d. h. fehlen von Bakterienwachstum. Aus dem nicht steril behandelten Blut, das im Brutschrank aufbewahrt wurde, konnten Bakterien gezüchtet werden, am meisten aus Blut 3 nach 72 und mehr Stunden.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 8 zusammengestellt.

---

* Vgl. die Zusammenfassung und Literatur in *Oppenheimer:* Die Fermente und ihre Wirkungen, 5. Aufl., Bd. 1, S. 731 f. 1925.

Tabelle 8. Veränderungen des Blutglykogens beim Stehen in vitro unter verschiedenen Bedingungen (Menschenblut).

[Die Werte bedeuten mg-%; Zu. = freier Zucker (+ Restroduktion) nach *Hagedorn-Jensen;* Gl. = Glykogen].

Bestimmt	Blut 1, Brutschrank				Blut 2, Brutschrank				Blut 3, unsteril					
	steril		unsteril		steril		unsteril		Zimmert. + 18°		Eisschr. — 8°		Brutschr. + 37°	
	Gl.	Zu.	Gl.	Zu.	Gl.	Zu.	Gl.	Zu.	Gl.	Zu.	Gl.	Zu.	Gl.	Zu.
Nach der Entnahme	9,9	118	9,9	118	9,7	88	9,7	88	10,5	71	10,5	71	10,5	71
Nach 8 Std.	9,0	10	—	—	10,9	10	10,2	12	10,8	16	10,5	63	10,1	9
„ 24 „	—	—	7,1	12	7,1	14	6,6	15	10,1	15	10,2	59	9,2	27
„ 48 „	6,9	16	—	—	5,9	10	5,7	13	8,0	12	10,0	28	10,9	21
„ 72 „	5,1	22	8,1	16	4,8	17	7,6	10	5,2	17	9,5	19	13,8	30
„ 96 „	—	—	8,7	13	—	—	—	—	—	—		—	—	—
„ 120 „	6,8	29	10,8	21	6,0	20	7,7	33	7,1	18	8.2	24	20,4	39
„ 156 „	—	—	9,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	-	—
„ 180 „	7,0	29	10,8	17	6,9	18	6,7	17	8,0	22	—	—	45,6	51

Die Resultate dieser Versuchsreihen sind folgende: steriles, im Brutschrank aufbewahrtes Blut, verliert sehr langsam an Glykogen; der Minimalwert wird etwa nach 72 Stunden erreicht und beträgt noch rund 50% des Anfangswertes (52% bzw. 50% bei Blut 1 u. 2). Den gleichen maximalen Spaltungswert hat auch *Gabbe*[9] bei anderer Versuchsanordnung und viel rascher eintretend, gefunden. Diese Glykogenspaltung ist offenbar durch das Amylaseenzym des Blutes bedingt. Bei noch längerem Stehenlassen des Blutes im Brutschrank, bis zu 180 Stunden, steigt der Glykogengehalt wieder um etwa 2 mg-% an. Die Ursache dieses Anstieges ist unbekannt; Blut 1 und 2 waren bei Versuchsende noch steril.

Wird das Blut nicht unter sterilen Kautelen behandelt und im Brutschrank aufbewahrt, so zeigt sich in den ersten 24—48 Stunden ein ähnlicher Glykogenabfall, wie beim sterilen Blut. Schon nach 24—48 Stunden fängt aber der Glykogenwert an zu steigen und ist höher, als im sterilen Blut. Besonders auffällig ist der Anstieg des Glykogengehaltes im Blut 3, das im Brutschrank aufbewahrt wurde, und das schließlich nach 180 Stunden einen 4—5mal höheren Glykogengehalt aufwies, als zum Versuchsbeginn. Wir nehmen an, daß der Glykogenanstieg im unsterilen Blut auf den Glykogengehalt der sich vermehrenden Bakterien zurückzuführen ist. Für diese Annahme spricht, daß sich steriles Blut, das bei Zimmertemperatur bei + 18° aufbewahrt wird, also unter Bedingungen, die für Bakterienwachstum weniger geeignet sind, diesen hohen Glykogenanstieg nicht zeigt und sich während 180stündigem Stehen völlig gleich verhält, wie steriles, im Brutschrank aufbewahrtes Blut. Wird das Blut im Eisschrank bei — 8° aufbewahrt, so fehlt der Glykogenanstieg ebenfalls. Bei — 8° behält übrigens das Blut bis zu etwa 72 Stunden des Ausgangswert annähernd

unverändert bei. Es ist während dieser Zeit nur eine Verminderung um 1 mg-% eingetreten. Wir können schließen, daß bei niedriger Temperatur die Wirksamkeit der Blutamylase beinahe vollständig gehemmt ist.

Für die weiteren Untersuchungen über Blutglykogen geben diese Versuchsreihen den Hinweis, daß Citratblut im Eisschrank während vielen Stunden aufbewahrt werden kann, ohne an Glykogen wesentlich zu verlieren.

In der Tabelle 8 sind die Blutzuckerwerte nach der *Hagedorn-Jensen*-Methode angegeben, die jeweils gleichzeitig mit Glykogen in den verschiedenen Blutproben bestimmt wurden. Durch den bekannten Vorgang der Hämoglykolyse verschwindet im Brutschrank der freie Zucker innerhalb der ersten 8 Stunden aus dem Blut und es bleibt der sog. „Restreduktionswert" von etwa 15—30 mg-% übrig. Im Eisschrank aufbewahrtes Blut (vgl. Blut 3) zeigt sehr viel langsamer verlaufende Glykolyse. Im nicht sterilen, bei Brutschranktemperatur aufbewahrten Blut 3, das erhebliches Bakterienwachstum zeigte, nimmt der Reduktionswert (freier Zucker + Restreduktion) mit der Länge der Versuchsdauer wieder zu, offenbar durch Stoffwechselvorgänge der Bakterien bedingt.

Zusammenfassung.

1. Mit der vom *Parnas*'schen Institut für kleine Mengen Gewebe angegebenen Methode, wird der Glykogengehalt in 1 ccm Blut nach der *Pflüger*'schen Vorschrift bestimmt.

2. Der Nüchternglykogenwert des Vollblutes liegt beim Menschen zwischen 6,7 und 12,2 mg-% beim Hund zwischen 8,6 und 15,3 mg-%, beim Kaninchen zwischen 6,4 und 14,4 mg-%. Der Durchschnittswert liegt beim Menschen und Kaninchen mit 9 mg-% etwa gleich hoch, beim Hund ist er mit 12,6 mg% höher.

3. Die Glykogenwerte im Plasma und Serum sind für Menschen, Hund und Kaninchen annähernd gleich und liegen bei 3 mg-%. Der größere Teil des Blutglykogens ist demnach an die Formelemente des Blutes gebunden.

4. Am gleichen Individuum (Mensch oder Kaninchen) ist der Blutglykogengehalt auffällig konstant.

5. Steriles Blut im Brutschrank bei 37° stehen gelassen verliert innerhalb 72 Stunden rund 50 % seines Glykogens. Bei — 8° aufbewahrtes Blut zeigt diesen Glykogenverlust in sehr viel geringerem Maße und behält den Glykogengehalt während 72 Stunden annähernd unverändert bei.

6. Im nicht steril behandelten und im Brutschrank aufbewahrten Blut nimmt mit der Dauer der Versuchszeit der Glykogengehalt zu. Die Glykogenzunahme, die beträchtliche Höhe erreichen kann, wird auf die Bakterienvermehrung zurückgeführt.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Prof. Dr. *H. Staub* für die freundliche Überlassung des Themas und die gütige Unterstützung bei der Arbeit meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Literaturverzeichnis.

[1] *Haworth* u. Mitarbeiter: J. chem. Soc. Lond. **1929**, 2479; **1932**, 2277. — Nature (Lond.) **129**, 365, (1932). — [2] *Grevenstuk*: Erg. Physiol. **28**, 1, spez. 112f. (1929). — [3] *Staub*: Handb. der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. 16, Teil 1, S. 571f. — [4] *Parnas*: Biochem. Z. **116**, 75, (1921). — [5] *Staub*: Z. klin. Med. **107**, 608 (1928). — [6] *Nerking*: Pflügers Arch. **85**, 320 (1901). — [7] *Hagedorn-Jensen*: Biochem. Z. **137**, 92 (1923). — [8] *Kaufmann*: Cpt. rend. soc. Biol. Paris **47**, 153, 316 (1895). — [9] *Gabbe*: Verh. physik. med. Ges. Würzburg **52**, 126 (1927). — [10] *Schwarz* u. *Gerson*: Dtsch. Arch. klin. Med. **164**, 96 (1929). — [11] *de Jongh* u *Planelles*: Biochem. Z. **154**, 167 (1924). — [12] *Mainzer*: Diss. Frankfurt a. M. 1931. — [13] *Folin* and *Berglund*: J. biol. of chem. **51**, 213 (1922). — [14] *Eufinger*: Mschr. Geburth. **93**, 51 (1932). — [15] *Pflüger*: Das Glykogen, S. 166, Bonn 1905. — [16] *Schöndorff*: Pflügers Arch. **99**, 191 (1903). — [17] *Bong*: Pflügers Arch. **232**, 482 (1933). — [18] *Ohara*: Tohoku J. of exper. Med. **6**, 191 (1925). — [19] *Lang*: Biochem. Z. **200**, 90, (1928). — [20] *London* u. *Entin*: Hoppe-Seylers Z. **225**, 279 (1934). — [20a] *London, Kotschneff* u. a.: Pflügers Arch. **233**, 160 (1934). — Z. exper. Med. **95**, 403 (1935). — [21] *Charit*: Pflügers Arch. **214**, 327 (1926).